



TITLE:

1-5 T細胞分化過程におけるレトロウイルス感染と分化異常の解析 (X.共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

速水, 正憲; 伊吹, 謙太郎; 三宅, 在子; 竹村, 太地郎;
秋山, 尚志; 斎藤, 尚紀

CITATION:

速水, 正憲 ...[et al]. 1-5 T細胞分化過程におけるレトロウイルス感染と分化異常の解析(X.共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2005, 35: 91-92

ISSUE DATE:

2005-08-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/166175>

RIGHT:

休息, 探索, 自己指向的動作, 移動, 社会交渉, その他に区分し, ケージ個体は1日9時間の観察を9日間, 屋外個体は1日30分の観察をエンリッチメント前後に各30日間おこなった. その結果, ケージ個体は休息と自己指向的動作が全体の80.6%, 屋外個体は休息と移動が68.1%を占めた. ケージ個体は68.1%を1ヶ所で過ごし, 屋外個体は高所で73.9%を過ごし, 様々な高さを利用した. エンリッチメント前後で自己指向的動作は5.8%から0%に消失した. 以上から, ケージ単独飼育では活動性が低いこと, 自己指向的動作は環境間で大きく変化し, 心理的幸福の行動指標となりうる事が示唆された.

1-3 霊長類の潜伏感染ウイルスの比較と動態

石田貴文, セーチャン・ヴァンナラ (東京大・理)

潜伏感染するウイルスは直接症状を呈さなくとも, その感染が間接的に疾病の発症と関与することが多く, それらウイルスのモニタリングは人獣問わず公衆衛生学的に重要である. 本研究では, 常在ウイルスのうちγヘルペスウイルス(*Lymphocryptovirus*)を対象とし, 1) 霊長類各種におけるウイルス検出・ゲノム比較と2) 宿主の健康指標として細胞外ウイルスゲノムの検出をおこなうための基礎研究を行った. γヘルペスウイルス(*primate lymphocryptovirus*)の系統比較とコアシーケンス(ウイルスの存続・病原性等に関わる普遍的配列)の同定のため, 大型類人猿から新世界ザルまでを対象とし採血した.

霊長類 *Lymphocryptovirus* のコアシーケンス検出用PCRプライマーの設計をおこない, ヒト・類人猿・旧世界ザルのウイルスについて検出可能であることを確認した. このプライマーを用い既存の霊長類細胞株中のγヘルペスウイルス感染の有無と塩基配列を調べたところ, 意外にもヒトウイルスの感染が多く見られた. 健康指標としての細胞外ウイルスゲノムについては, チンパンジー血漿・唾液を用いリアルタイムPCR法によってゲノムの有無とコピー数を算定する系を確立した.

1-4 様々な疾病におけるマカク類サルの調節性CD4細胞集団の変化と機能

中垣和英, 中村伸一郎 (日本獣医畜産大・獣医), 後藤俊二 (京都大・霊長研)

CD25⁺CD4⁺細胞サブセットは免疫応答の調節機能を有する細胞亜集団として知られている. この集団

のもっとも大きな調節機能は自己反応性の細胞と拮抗して, 末梢性の自己免疫性応答を抑制することにある. さらに, この亜集団は種々の感染症やアレルギー疾患においても, 重要な調節性の役割を演じている. 私共は, 免疫生物学的目的から, 主にニホンザルを中心とするマカク類における, この亜集団の役割に注目した. 今回は, 末梢血中のCD25⁺CD4⁺細胞の割合を, 健康なサルの末梢血と免疫系にゆらぎの生じるような状態のサル末梢血の亜集団を調べた.

方法: 抗体はベクトン・デッキンソン社(B-D社)のCD4-PE, CD25-FITCラベル抗体を用いた. サンプルは末梢血より採血し, ヘパリン処理血液として, 高速遠心後, buffy coatを採取, L-12培地に懸濁し, 宅配便にて, 本学に輸送した. リンパ球分離のために, この懸濁液をHistopaque 1.077に重層し, 2,000 rpmで30分遠心し, 中間層を採取した. この層は82%から95%がリンパ球であった. この細胞を1mlに百万個になるように浮遊細胞液を作製した. 百万個の細胞を用いて, dual染色を行い, FACS Calibur (B-D社)を用いて, プロビジュム染色でFL3上の陽性細胞として除外して, データ採取と解析を行った.

健康なニホンザルのこの亜集団の割合は, リンパ球中0.2から1.5%で, 人やマウスで報告されている値に近いと思われる. 主に外傷などの疾患の場合, この亜集団の割合が高くなる個体もあったが, 正常値内に収まる物もあった. この亜集団の割合を上昇させる要因との関連を見つけることは出来なかった. さらに, この集団のサイトカインプロファイルを調べるために, この集団の精製を試みた. そこで, CD25⁺CD4⁺亜集団を分離するキットを検討したが, マカク類サルでは純度, 回収共に不十分であった. 組織内での分布については, 現在検討中である.

1-5 T細胞分化過程におけるレトロウイルス感染と分化異常の解析

速水正憲, 伊吹謙太郎, 三宅在子,

竹村太地郎, 秋山尚志, 斎藤尚紀 (京都大・ウイルス研・霊長類モデル研究領域)

昨年度に引き続き, レトロウイルス感染の胸腺細胞分化・増殖過程に及ぼす影響を, 供与された正常アカゲザル胸腺(8ヶ月令, 1頭)とxenogenic monkey-mouse fetal thymus organ culture (FTOC) systemを用いて解析した. FTOC systemはimmature thymocyte (CD3-/4-/8-)からmature thymocyte (CD3+/4+/8+)に分化・増殖させる事の出来る臓器培養系であり, ウイルスを加えない場合には, 培養14日目で約75%がmature

thymocyteに分化・増殖した。一方、強毒・弱毒サル／ヒト免疫不全キメラウイルス(SHIV)をこの培養系に加えると、それぞれ38.1%、44.2%となり、分化が抑制されることがわかった。このことは、ウイルスがその病原性の程度に相関して未分化なT細胞の分化を障害する可能性を示唆するものである。今後さらに例数を増やし再現性を確認すると共に、ウイルス感染によりどのようなメカニズムで分化が抑制されるのか、この系を用いて詳細に検討していきたい。

1-6 HVP2 抗原等を用いたマカク血清 BV 抗体調査と陰性コロニーの作出

佐藤浩，大沢一貴（長崎大・先端生命科学研究所支援センター）

B ウイルス(Cercopithecine herpesvirus 1)は自然宿主のサルでの致死感染は例外的であるが、ヒトに感染すると致死的な疾患を引き起こすことが知られている。このことから、簡便な抗体検出用のキット開発が求められているが、国内ではB ウイルスの大量培養による抗原作製は不可能である。最近B ウイルスと近縁のヒヒヘルペスウイルス (HVP2) 抗原が抗体検出に非常に有効であることが報告された (LAS, 1999)。そこで本実験施設では、HVP2 抗原を用いたB ウイルス抗体検出用 ELISA キットを作製し、希望する研究機関に頒布すると共に、キットの安定性の調査および操作性の向上を図るため、頒布先の機関よりキットを用いた検査結果と検査血清の送付を依頼している。今回、1976年から2003年にかけて京都大学霊長類研究所で採血されたニホンザル血清 793 検体についての検査を行ったので報告する。

【材料と方法】

検査材料 -80℃で凍結保存。**抗原** B ウイルスの代替抗原としてヒヒヘルペスウイルス (HVP2) 抗原を Vero 細胞に感染させ、36-48 時間後に感染細胞を回収し、可溶化後、遠心上清をウイルス抗原液とした。対照として非感染 Vero 細胞抗原を用いた。**反応と発色** 96 穴プレートに 200-800 倍希釈ウイルス抗原をコートし、抗原プレートとした。発色にはビオチン化抗ヒト IgG、アビジン・ビオチン化ペルオキシダーゼによる増幅を介し、OPD を基質として発色させ、硫酸にて停止後、波長 492nm における吸光度を測定した。

【結果】 検査の結果、陽性：229、陰性：557、不定：7 となり、陽性率は約 29% (229/793) であった。2001 年以降、陽性率が 10%前後を推移し、それまでの約 40%に比べて大きく低下していた。SPF コロニー作出が本格化していることがうかがえた。99 年・00 年ロ

ットに比べて、01 年・03 年キットは発色がやや不良で OD 値が低めとなったが、診断キットの根幹である「陽性・陰性の判定」の点では、長崎で行った診断結果(追試)と差異はなかった。04 年ロットは、抗原濃度を 99 年レベルにまで戻し(上昇し)たので、良好な検査結果が得られるものと期待している。

2-1 ウマヤザル信仰に伴う頭蓋骨の調査による口承と生息分布域の相関関係

中村民彦

ウマヤザル信仰とは既に猿の頭蓋骨や手を祀り牛馬の健康や安産などを祈願したものである。当信仰は東北全域に流布していたが、近代から現代における残留形態や口承の全容は充分に解明されていない。更に、これに関係するニホンザルの捕獲や捕殺の方法も不明である。今年度も当風習を知る古老からの口承を求め、聞き取りにより記録し、ニホンザルの生息分布との関係を明らかにしようと岩手県を中心に調査を行った。調査の結果、従来発見されている事例も加えると軽米町 1、山形村 6、久慈市 1、野田村 1、玉山村 1、雫石町 2、新里村 2、沢内村 1、東和町 1、北上市 2、江刺市 1、胆沢町 1、大東町 1、前沢町 2、藤沢町 2、平泉町 1 の計 26 の事例を記録する事ができた。保存形態の内訳は頭蓋骨 22、手 4 である。頭蓋骨では牛馬の守護神、薬用、安産、火災防止などの口承事例を得た。手については種蒔き時に使用すると豊作との口承事例を得た。頭蓋骨には無病息災や家内安全を、手には五穀豊穡をと、祈願の内容に使い分けが認められる。一方、捕獲や捕殺の方法を詳細に知るインフォーマントは発見できなかった。当信仰が広く分布し、こうしたサルの需要にサルマタギのような供給者が関与していたなら県下のサル生息地の消失を招いた狩猟圧の原因になった可能性も考えられる。ウマヤザルの風習とニホンザルの分布空白域との関係については、次年度以降の調査で更に検討を重ねていきたい。

2-2 GIS を用いたニホンザルの行動圏利用に関わる要因の評価

辻大和（東京大・院・農学生命科学）

本研究ではニホンザルの行動圏利用に関わる諸要因を定量化し、各要因がニホンザルの生息地利用に与える影響の相対的な重要性を把握することを目的とする。本年度は、泊まり場の選択と温度環境の関連性を示すことに重点を置いた。宮城県金華山島北西部の様々な地形 6 タイプ 10 箇所(尾根×3、沢×3、海岸、